



**Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:**

**Resumo**

**Relato de Caso**

## **HABILIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME POR *Campylobacter JEJUNI* EM DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS**

**AUTOR PRINCIPAL:** Rafael Teixeira Ritter

**CO-AUTORES:** Sara Souza Gehlen, Nathanyelle Soraya Martins de Aquino, Max Weber de Menezes Calasans, Henrique Bilibio, Juliana Orsato, Gustavo Perdoncini, Vladimir Pinheiro do Nascimento, Laura Beatriz Rodrigues.

**ORIENTADOR:** Prof. Dra. Laura Beatriz Rodrigues

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

### **INTRODUÇÃO**

*Campylobacter* é um agente causador de infecções bacterianas gastrointestinais de origem alimentar (SULAEMAN *et al.*, 2012). Em humanos, a campilobacteriose é causada principalmente pelo *Campylobacter jejuni*, proveniente do consumo de carne de frango, a principal fonte de infecção (DICKINS, *et al.*, 2002; MOORE *et al.*, 2005). Frangos de corte são reservatórios de *C. jejuni*, considerado comensal do trato intestinal destes animais. O *C. jejuni* pode contaminar o ambiente via fezes, espalhando-se rapidamente (REUTER *et al.*, 2010). O patógeno microaerófilo *C. jejuni* consegue sobreviver em condições ambientais com baixas concentrações de nutrientes e altas concentrações de oxigênio na forma de biofilmes (REUTER *et al.*, 2010; SVENSSON *et al.*, 2008; SULAEMAN *et al.*, 2012). Neste estudo, foi avaliada a habilidade de formação de biofilme em poliestireno, matéria-prima de embalagens, por estirpes de *C. jejuni* isoladas de abatedouro avícola sob diferentes condições de incubação.

### **DESENVOLVIMENTO:**

A metodologia para avaliar a formação de biofilme em placas de poliestireno foi baseada em Rodrigues (2009). Foram testadas 7 amostras de *C. jejuni* e uma cepa padrão ATCC 29428. Foram reativadas e confirmadas em meio de cultura seletivo mCCDA (Modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar), coloração de Gram e coloração de Bryner e Frank para motilidade. Após, os isolados foram semeados em meio mCCDA e incubadas por 48 horas a 42°C em condição de

microaerofilia. Posteriormente, foi realizada a diluição das colônias ativas em caldo TSB (tryptone soya broth) sem glicose e em caldo Bolton até corresponder a escala 1 de MacFarland. Inoculou-se 200 µL da suspensão bacteriana de cada amostra, em triplicata, em placa de poliestireno de 96 poços com fundo chato. Como controle negativo foi utilizado caldo TSB e Bolton não inoculados, também em triplicata. As placas foram incubadas em condições ambientais de microaerofilia e aerobiose a 42±1°C, 36±1°C, 25±1°C, 9±1°C e 3±1°C durante 24 horas. Posteriormente, os poços foram aspirados, lavados 3 vezes com 250 µL de NaCl a 0,9% e fixados com 200 µL de metanol p.a. por 15 min. As placas foram secas à temperatura ambiente, coradas com 200 µL de solução de cristal violeta de Hucker 2% durante 5 minutos, lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente. A leitura foi obtida em leitor de ELISA a 550 nm e as amostras foram classificadas em: não aderente ( $DOa \leq DOcn$ ), fracamente aderente ( $DOcn < DOa \leq 2 \cdot DOcn$ ), moderadamente aderente ( $2 \cdot DOcn < DOa \leq 4 \cdot DOcn$ ) e fortemente aderente ( $4 \cdot DOcn < DOa$ ). Das 7 amostras testadas, houve amostras não aderentes e amostras fracamente formadoras de biofilme em todas as temperaturas testadas, em ambos os caldos testados, e nas condições de incubação de microaerofilia e aerobiose (Figura 1). Das amostras incubadas a 3°C e 9°C, a maioria das amostras foram fracamente formadoras de biofilme em condições de aerobiose em ambos os caldos testados, mas foi observada adesão. Na temperatura de 25°C, as 7 amostras testadas e a cepa padrão formaram biofilme tanto em ambiente de microaerofilia como aerobiose, principalmente em caldo TSB. A 36°C e 42°C a maioria das amostras foram classificadas como fracamente formadoras de biofilme, em caldo TSB, em ambas as condições de incubação. A divergência nos resultados deste estudo foi relacionada a característica de *C. jejuni* possuir grande variação na sua capacidade de formação de biofilme, sendo que alguns facilmente formam biofilme e outros parecem estar impedidas desta característica (JOSHUA *et al.*, 2006). Por outro lado, num estudo realizado por Gunther *et al.* (2009), diversos gêneros de *Campylobacter* foram testados quanto a formação de biofilme em condições de microaerofilia e anaerobiose a 42°C por 48 horas de incubação e todas as amostras testadas, inclusive uma *C. jejuni*, demonstrou-se fortemente formadora de biofilme em poliestireno. Todavia, neste estudo, as amostras foram fracamente formadoras de biofilme provavelmente por terem sido testadas por 24 horas de incubação.

#### **CONSIDERAÇÕES FINAIS:**

Os isolados de *C. jejuni* testados aderiram ao poliestireno, em todas as condições testadas, inclusive aerobiose e temperaturas de refrigeração. Ressaltamos a formação de biofilme em ambiente aeróbico, pois na fase planctônica o *C. jejuni* se desenvolve apenas em microaerofilia. Este pode ser um dos fatores que contribuem a persistência em abatedouros avícolas, na carne de frango e embalagens de armazenamento, possibilitando a transmissão ao homem.

#### **REFERÊNCIAS:**

DICKINS, M.A. *et al.* Journal of food Protection, v.65, n.6, p.957-962, 2002.

GUNTHER IV, NW; CHEN, C-Y. Food Microbiology, V.26, p.44–51, 2009.  
JOSHUA *et al.* Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. Microbiology, p. 387–396, 2006.  
REUTER, M. *et al.* Applied and Environmental Microbiology. v. 76, n. 7, p. 2122–2128, 2010.  
MOORE, J.E. *et al.* Campylobacter. Vet. Res, v.36, p. 351–382, 2005.  
RODRIGUES, L. B. *et al.* Acta Sci. Vet. v. 37, p. 225-230, 2009.  
SULAEMAN, S. *et al.* Plos One, v.7, p.9, 2012.  
SVENSSON, S. L. *et al.* Survival strategies of *Campylobacter jejuni*: stress responses, the viable but nonculturable state, and biofilms. ASM Press, Washington, DC. p. 571–590, 2008.

## **ANEXOS**

Figura 1. Comportamento das cepas de *Campylobacter jejuni* quanto a formação de biofilme nas temperaturas de 3°C, 9°C, 25°C, 36°C e 42°C, envolvendo condições de incubação em microaerofilia e aerofilia e nos caldos de cultivo Bolton e TSB.

